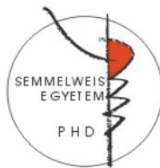


A krónikus glükokortikoid-hiány és
a korai szociális izoláció következtében kialakuló
abnormális agresszióformák, valamint
a ragadozói agresszió idegrendszeri szabályozásának
vizsgálata patkányban

Doktori tézisek

Tulogdi Áron

Semmelweis Egyetem
Szentágotthai János Idegtudományi Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Haller József tudományos tanácsadó, D.Sc.

Hivatalos bírálók: Dr. Mezey Szilvia tudományos munkatárs, Ph.D.
Dr. Kabai Péter egyetemi docens, Ph.D.

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Halász Béla, prof. emeritus, az MTA tagja

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Nagy György egyetemi tanár, D.Sc.

Dr. Lévay György tudományos tanácsadó, Ph.D.

Budapest
2014

Bevezetés

A kóros agresszivitás komoly egészségügyi és társadalmi probléma, mechanizmusai azonban alig ismertek. E heterogén viselkedéscsoportnak elkülönítették a proaktív (hidegvérű) és a reaktív (érzelmi) formáit. E különféle agresszióformák mechanizmusainak megértéséhez hozzásegíthet a kóros humán agresszióformák etiológiai tényezőin alapuló állatmodellek vizsgálata. Minőségi jellegei alapján abnormális agressziót patkányokban először kutatócsoportunk írt le: a mellékvesék műtéti eltávolítása által kialakított alacsony, nem reaktív glükokortikoid-szint az ellenfél sérülékeny testrészeinek támadásához és eközben csökkent autonóm reaktivitáshoz vezetett, mindezek alapján ezt a paradigmát a szerzők a proaktív, hidegvérű agresszióforma modelljeként javasolták. Később szintén kutatócsoportunk figyelte meg, hogy laboratóriumi patkányok elválasztás utáni szociális izolációja szintén az ellenfél sérülékeny testrészeinek támadásához vezetett. A korai szociális élet zavara szintén a kóros humán agresszióformák egy fontos etiológiai faktora.

Amennyiben az izoláció által kiváltott abnormális agresszióhoz fokozott stressz- és autonóm működések társulnak (amint ez az irodalom alapján feltételezhető), úgy ez lehet az első olyan állatmodell, amely a kóros agresszivitás reaktív, érzelmi típusának etiológiai tényezőit mutatja. Első lépésként ezt a kérdést vizsgáltuk meg, valamint azt, hogy az abnormális agresszivitást vissza lehet-e fordítani felnőttkori reszocializációval.

Ezzel párhuzamosan megvizsgáltuk az agresszió szabályozásában szerepet játszó hipotalamikus, amigdaláris, prefrontális, középagyi és egyéb agyterületek aktivációs mintázatait c-Fos immunhisztokémia módszerrel mind a krónikus glükokortikoid-hiány, mind pedig a szociális izoláció által indukált agresszióformákban. Mivel korábban felmerültek hasonlóságok a proaktív, hidegvérű agresszió és a macskákban, stimulációs módszerekkel részletesen vizsgált ragadozói agresszió között, ezért a ragadozói agresszió során aktiválódó agyterületeket is megvizsgáltuk patkányban c-Fos immunhisztokémia módszerrel, hogy a fenti abnormális agresszióformák mechanizmusaival pontosabban összehasonlíthassuk.

Humán vonatkozásai mellett e vizsgálatok etológiai szempontból is fontosak, hiszen a különböző agresszióformák mechanizmusainak feltárása által jobban megérthetjük a stressz hatását az agresszív viselkedésre, valamint információt nyerhetünk a populációkban jelenlévő agresszióbeli változatosság élettani mechanizmusairól.

Célkitűzések

A korai szociális izoláció következtében kialakuló abnormális agresszió jellemzése

1. Milyen stressz- és autonóm működések kísérik a korai szociális izoláció következtében kialakuló abnormális agressziót?
2. Hogyan hat a korai szociális izoláció a felnőttkori, csoportban mutatott agresszivitásra és szociális viselkedésre? Visszafordítható-e a korai szociális izoláció következtében kialakult abnormális agresszió felnőttkori reszocializációval?

Különbféle agresszióformák idegrendszeri szabályozásának vizsgálata

3. A krónikus glükokortikoid-hiány következtében kialakuló abnormális agresszióhoz társuló agyi aktivációs mintázatok: van-e szerepük a ragadozói agressziót szabályozó agyrégióknak?
4. Mely agyterületek aktiválódnak a korai szociális izoláció következtében kialakuló abnormális agresszió során? Az aktiválódó agyterületek mutatnak-e átfedést a krónikus glükokortikoid-hiány következtében kialakuló abnormális agresszió során aktiválódó agyterületekkel illetve a természetes agressziót szabályozó agyterületekkel?
5. Mely agyterületek aktiválódnak a ragadozói agresszió során patkányban? Az aktiválódó agyterületek mutatnak-e átfedést a macskákban stimulációs módszerekkel leírt szabályozó agyterületekkel, valamint a krónikus glükokortikoid-hiány következtében kialakuló abnormális agresszió során aktiválódó agyterületekkel?

Módszerek

Állatok és tartási körülményeik

A kísérletek során vizsgált állatok hím Wistar patkányok voltak (Charles River Laboratories). A szociális izolációs kísérletekben az állatokat elválasztás után 12:12 órás fordított ciklusú állatszubában tartottuk. A glükokortikoid-hiányt, valamint a ragadozói agressziót vizsgáló kísérletekben az állatok a kísérlet előtt legalább két héttel kerültek fordított ciklusú szobába. Minden viselkedéstesztben 400-500 g tömegű patkányokat vizsgáltunk. A kísérletekben használt betolakodók a rezidens állatoknál mintegy 30 %-kal kisebb tömegűek voltak (300-350 g). Az egerek 50-70 napos, hím CD1 egerek voltak. Csapvíz és standard laboratóriumi táp

mindvégig szabadon állt az állatok rendelkezésére. A mellékveseirtást alkalmazó kísérletben 0,9 %-os NaCl-oldat is az állatok rendelkezésére állt. Kísérleteinket az Európai Bizottság Tudományos Tanács előírásainak (86/609/EEC) megfelelően, a Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet Állatjóléti Bizottságának felügyeletével és jóváhagyásával végeztük.

Elválasztás utáni szociális izoláció

A patkányokat a laboratóriumban szokásos módon, 21 napos korban választottuk el anyjuktól. Ezután egyesével (izolált csoport) vagy négyesével (szociális, kontroll csoport) tartottuk őket hét héten át. Ezalatt a rendszeres ketrectakarításon kívül egyéb kezelést nem kaptak. A viselkedésvizsgálatokat az elválasztás utáni nyolcadik héten kezdtük, azaz az állatok 11 hetes korában.

Műtéti beavatkozások

Biotelemetriás jeladó beültetése és a biotelemetriás mérés

Az agresszív interakciót kísérő szívfrekvencia-változásokat és lokomotoros aktivitást az állatok hasüregébe beültetett biotelemetriás jeladók (HR EMitter, PDT-4000; Mini Mitter Company, Bend, OR, USA) segítségével követtük nyomon. A jeladók tartalmaztak helyjelző lokátort, valamint a mellizomhoz rögzített két elektróda segítségével meghatározták a szívfrekvenciát. A jeladó által leadott rádiófrekvenciás jeleket az állatok dobozai alá helyezett vevőkészülékek regisztrálták és továbbították a VitalView Data Aquisition System szoftver felé (Mini Mitter Company, USA). A szívfrekvencia és a lokomotoros aktivitás mértékét regisztráltuk a nyugalmi periódusban és a rezidens-betolakodó teszt során.

Mellékveseirtás és glükokortikoid-tabletta beültetése

Stabilan alacsony, nem reaktív glükokortikoid-szintek létrehozására alkalmaztuk a mellékvesék műtéti eltávolítását, egy bőr alatti, 25 mg kortikoszteront tartalmazó tabletta beültetése mellett. Ez az eljárás korábbi kísérleteink szerint legalább három hétig stabil, alacsony kortikoszteronszintet biztosít. Kontrollként álműtött patkányokat alkalmaztunk.

Magatartási módszerek

Rezidens-betolakodó teszt

Az agresszív magatartásformák vizsgálatára a rezidens-betolakodó tesztet alkalmaztuk. E paradigma során a vizsgált állat (a rezidens) lakódobozába egy nála kisebb, ismeretlen fajtárs (betolakodó) került be 20 percre. A harapásokat részletesen, lassított felvételen elemeztük. Elkülönítettük a veszélyes – sérülékeny testrészekre (fej, torok, has) irányuló – és nem veszélyes – nem sérülékeny testrészekre (hát, oldal) irányuló – harapásokat. További minőségi jellemző volt, hogy a vizsgált

állat előre jelzi-e harapásait. Tapasztalatunk szerint az agresszivitás minőségi aspektusai a mennyiségi jellegeknél sokkal megbízhatóbban jellemzik a kóros elváltozásokat. Az izgatottság viselkedési jeleinek vizsgálatához részletes viselkedéselemzést végeztünk a H77 szoftver segítségével.

Viselkedés szociális csoporton belül

A szociális csoporton belül kétféle viselkedést vizsgáltunk: a csoportos agressziót az aktív (sötét) napszakban, valamint az együtt lakó állatok együtt alvását („huddling”, „összebújás”) az inaktív (világos) napszakban. A csoportos agresszió vizsgálatához egy órás videofelvételeket készítettünk. Minden egyes állatra meghatároztuk a fenyegető magatartás, domináns pozíció, védekező magatartás (indokolt ill. indokolatlan), alárendelt testtartás és a harapások frekvenciáját.

Az együtt alvás vizsgálatához a világos periódus elején vizsgáltuk a közvetlen fizikai kontaktusokat. Kétnaponként elemeztük az adatokat: ha egy állat legalább az egyik napon közvetlen fizikai kontaktusban aludt legalább egy másik társával, akkor együtt alvónak tekintettük. Ha egyik napon sem volt fizikai kontaktusban egyetlen társával sem, akkor külön alvónak tekintettük.

A ragadozói agresszió vizsgálata

A ragadozói agresszió vizsgálatok a vizsgált patkányok egyedi lakódobozába egy-egy egér került be 20 percre. Ha egy patkány megölte az egeret 20 percen belül, akkor az egeret megölő patkányok csoportjába került, és kivettük a lakódobozából az egeret. Ezzel egy időben egy véletlenszerűen kiválasztott másik patkány lakódobozából is kivettük az egeret, ezek alkották az egeret meg nem ölő patkányok csoportját. Az idegrendszeri alapaktivitás vizsgálatához vizsgáltunk egy olyan csoportot is, amely egyáltalán nem találkozott egérrel.

Hormonmérés

A farki vénából bemetszéssel nyertünk vérmintát. A mintavétel egyperces időablakon belül történt, mely biztosította, hogy a vérvétel maga nem befolyásolta a glükokortikoid-szintet. A vérmintákat etilén-diamin-tetraecetsavat (EDTA) tartalmazó eppendorf csövekbe gyűjtöttük, majd lecentrifugáltuk. A vérplazmából „radioimmunoassay” (RIA) módszerrel történt a kortikoszteron-szint mérése, a kortikoszteroid-kötő fehérje (CBG) eliminációja után. Jelölőanyagként ¹²⁵I-jelölt kortikoszteron-karboximetiloxim-tirozin-metil észter származékát használtuk.

Szövetteni eljárások

Perfúzió

A perfúziót a viselkedésteszt utáni 60-120. percre időzítettük (egy kísérleten belül ugyanarra az időpontra), ebben az időszakban ugyanis a c-Fos fehérjetermékének szintje a sejtmagban megközelítőleg állandó és maximális. A perfúzió altatásban történt, 150 ml 4 °C-os fiziológiás sóoldatot tartalmazó foszfát pufferrel (PBS), majd 300 ml paraformaldehiddel (4 %, PBS-ben oldva). Az agyak a koponyából való eltávolításuk után 3 órás posztfixáláson estek át, majd azidos PBS-ben tároltuk azokat. Metszés előtt az agyakat 48 órára 20 %-os szacharóz oldatba helyeztük (PBS-ben oldva). Az agyakból fagyasztó mikrotóm segítségével 30 µm vastagságú koronális metszetsorozatokat készítettünk. A metszeteket 4 °C-on, azidos PBS-ben tároltuk az immunhisztokémiai jelölésig.

A c-Fos immunhisztokémiai jelölése és kvantitatív analízise

A metszetek Triton-X-100-zal és hidrogén-peroxiddal történő kezelését normál lószérumban történő blokkoló kezelés követte. Az elsődleges ellenanyag a c-Fos fehérje N-terminálisa ellen, nyúlban termeltetett specifikus, poliklonális, ellenanyag volt (Santa Cruz Biotechnology). Ez az ellenanyag megbízhatóan jelzi az akut neuronális aktivációt. Ezután biotin-konjugált F_{AB} lánc oldatában történő inkubáció következett, majd sztreptavidin-konjugált tormaperoxidázt kapcsoltunk a másodlagos antitesthez, vagy avidin-biotin komplexet alkalmaztunk. A peroxidáz reakció Tris pufferben oldott diaminobenzidin-tetrahidroklorid (DAB), nikkel-ammonium szulfát és hidrogén-peroxid jelenlétében zajlott.

Mivel a c-Fos fehérje a sejtmagban lokalizálódik és azt kitölti, ezért a jelölt sejtmagok jól elkülönültek jelöletlen környezetüktől. A jelölt sejtek számolásával lehetővé válik a kvantitatív analízis. Vizsgálatainkban az agresszióban releváns agyrégiókra koncentráltunk (hipotalamusz, amigdala, középagy, prefrontális kéreg). Olympus mikroszkóppal digitális fényképeket készítettünk, majd az ImageJ szoftver (NIH, USA) segítségével a c-Fos pozitív sejtszám meghatározására automatizált módon került sor.

Statisztikai elemzések

A statisztikai analízist a STATISTICA szoftverrel végeztük. A rezidens-betolakodó teszt esetében Kruskal-Wallis tesztet és Mann-Whitney U páros összehasonlításokat alkalmaztunk. A csoportban mutatott agresszív viselkedések frekvenciáját, a kortikoszteron-szinteket, a szívritmust, a testhőmérséklet és a mozgásaktivitás alakulását, valamint a c-Fos pozitív sejtek számát ANOVA modellekben elemeztük, szükség esetén Newman-Keuls páros összehasonlításokat alkalmaztunk, Holm-Bonferroni korrekcióval. Az együtt alvó állatok arányát Chi-négyzet teszttel

hasonlítottuk össze. A magatartási változók és az egyes agyrégiók aktivációja közti összefüggések feltárására Spearman korrelációt alkalmaztunk. Szignifikáns hatásnak minden esetben a $p < 0,05$ értékeket tekintettük.

Eredmények és megbeszélésük

A vizsgált paradigmákban megfigyelt különböző agresszióformák

Korábbi eredményeket a jelen dolgozatban megerősítve azt mondhatjuk, hogy a mellékveseirtott és az izolált patkányok abnormális agresszivitása egyrészt hasonló volt: a veszélyes harapások arányának növekedése és a harapások előrejelzésének csökkenése mindkét paradigmában megfigyelhető. Ugyanakkor néhány fontos különbség is megfigyelhető: egyrészt az abnormális agressziót kiváltó ok jelentősen eltér (mesterségesen kiváltott, krónikus glükokortikoid-elégtelenség, tehát élettani probléma a mellékveseirtott patkányok esetében; a korai szociális élet hiánya, tehát környezeti hatás az izolált patkányok esetében), másrészt a harapások mennyiségi növekedése és a defenzivitás csak az izolált patkányokra jellemző.

Az egeret megelőző patkányok a fajra jellemző viselkedésmintázatot mutatták: hirtelen támadással, fenyegető jelzés nélkül eltörték az eger nyakát.

A szociális izoláció következtében kialakuló abnormális agresszió jellemzése

A szociális izoláció következtében kialakuló abnormális agresszióhoz társuló glükokortikoid- és autonóm működések, a viselkedés jellemzői

Nyugalmi időszakban a kortikoszteron-elválasztás és a szívritmus alapciklusa az izolált állatokban a kontrollkéhez hasonló volt, az agresszív interakció (rezidens-betolakodó teszt) során azonban mind a kortikoszteron-szint, mind a szívfrekvencia fokozott növekedést mutatott az izolált csoportban a kontroll csoporthoz képest. Mindez arra utal, hogy az izolált patkányok abnormális agresszivitása fokozott stressz- és autonóm reaktivitással társul. Különböző (nem agresszív) szociális kihívások hatására fokozott stresszreaktivitást találtak izolált állatokban korábban is. A jelen munkában leírt fokozott autonóm reaktivitás (szívritmus-emelkedés) adódhat az izolált patkányokban kimutatott fokozott adrenalin-reaktivitásból.

A rezidens-betolakodó tesztben az izolált patkányok a kontrollknál gyakrabban váltottak egyik viselkedésből a másikba és így tovább. Ez a jelenség hipotézisünk szerint az izolált állatok izgatott

viselkedését jelzi. Az izolált patkányok izgatott viselkedését többféle, nem szociális kontextusban leírták, tudásunk szerint szociális kontextusban ez az első erre utaló eredmény.

Az itt leírt fokozott autonóm és stresszreaktivitás, valamint az izgatott viselkedés még hasonlatosabbá teszi az izolált patkányok agresszivitását az elhanyagoltság következtében kialakuló pszichiátriai kórképekhez, hiszen több tanulmány számolt be fokozott autonóm és stresszreaktivitásról ezekben a kórképekben. Ezenfelül a fokozott autonóm és stresszreaktivitást szoros kapcsolatba hozták az agresszivitással is.

Eredményeink alapján úgy tűnik tehát, hogy a patkányok szociális izolációja által kiváltott abnormális agresszió fenomenológiai és etiológiai szempontból is hasonlít a kóros humán agresszivitás reaktív (érzelmi) típusára, hiszen amellett, hogy a kiváltó tényezőiben (korai szociális problémák) és megjelenésében (veszélyes támadások, szociális jelzések zavara, defenzivitás, izgatott viselkedés) hasonlít rá, ráadásul élettani mechanizmusaiban is analógiát mutat azzal (fokozott glükokortikoid- és autonóm reaktivitással társul). Ezzel szemben a mellékveseirtott patkányok abnormális agresszivitása a kóros humán agresszivitás proaktív (hidegvérű, instrumentális) típusára hasonlít, hiszen arra megjelenésében (veszélyes támadások, szociális jelzések zavara) és élettani mechanizmusaiban is hasonlít (alacsony, nem reaktív glükokortikoid-szint és csökkent autonóm reaktivitás). Mindez egyúttal rávilágít a két paradigma közötti átfedések és különbségek mellett egy igen fontos, élettani különbségre: a csökkent illetve fokozott stressz- és autonóm reaktivásra.

A reszocializáció hatása a szociális izoláció következtében kialakult abnormális agresszióra és szociális szorongásra

Amikor az izolált patkányok felnőttkorban szociális csoportba kerültek, szociális magatartásuk eltért a normálistól: fenyegető és domináns magatartást alig mutattak, a harapásaik száma viszont a kontrollokéhoz hasonló volt. Az izolált állatok gyakran védekező magatartással reagáltak társaik nem fenyegető magatartásaira. Mindez az agresszivitásuk ellentmondásos jellegére utal, és megfelel a rezidens-betolakodó tesztben megfigyelt eredményeknek, melyek szerint az izolált patkányok támadásait kevésbé jelzik előre, és egyúttal defenzívebbek is. Izolált csimpánzok és makákók esetében hasonló jelenségeket figyeltek meg.

Az izolált patkányok esetében a reszocializáció első hetében, alvás közben a társakkal való fizikai kontaktusok, azaz az együtt alvás alacsony mértékét figyeltük meg. Ez a viselkedés egy hét alatt normalizálódott. Eredményeinkhez hasonlóan szociális visszahúzódást és annak javulását mutatták ki izolált, majd reszocializált makákók és csimpánzok esetében is.

A három hétig tartó felnőttkori reszocializáció azonban nem állította vissza a szociális izoláció által indukált, a rezidens-betolakodó tesztben mutatott abnormális agresszivitást, hiszen a veszélyes harapások

arányát és a nem jelzett harapások arányát nem csökkentette. Ez az izolációnak az agresszivitásra kifejtett erőteljes hatására utal. Mennyiségi tekintetben az agresszivitásuk a háromhetes reszocializáció hatására némiképp javult, amely megfelel annak a korábbi közlésnek, mely szerint a reszocializáció mennyiségileg normalizálta az agresszivitást a szociális interakció tesztben.

Humán tanulmányokban hasonló eredményeket találtak. A gyerekkori elhanyagolás és bántalmazás nemcsak a felnőttkori agresszivitás fontos kockázati tényezője, hanem a szociális főbiának is, amelynek egyik legfontosabb tünete a szociális visszahúzódás. Pszichoterápiával viszonylag jó eredményeket lehet elérni a szociális fóbia kezelésében, a krónikus agresszivitás kezelésében azonban sokkal gyengébbek a pszichoterápia eredményei.

Összességében elmondhatjuk, hogy az izoláció által indukált különféle tünetek eltérő érzékenységgel reagálnak a reszocializációra. Míg a reszocializáció alatt, csoportban mutatott szociális problémák viszonylag hamar helyreálltak, addig az indokolatlan defenzivitás és a rezidens-betolakodó tesztben mutatott abnormális agresszió nem reagált ugyanarra a kezelésre. Mindezek még hasonlatosabbá teszik ezt a modellt a korai szociális problémák által indukált humán pszichopatológiákhoz.

A különböző agresszióformákban megfigyelt agyi aktivációs mintázatok

A mellékveseirtott patkányok agresszivitása megjelenésében és autonóm mechanizmusában a ragadozói agresszióhoz hasonlít: a harapásaik jelentős része veszélyes harapás, ezenkívül harapásaikat kevésbé jelzik előre, és az agresszivitást csökkent autonóm reaktivitás kíséri. Ez a hasonlóság motiválta a ragadozói agresszió szabályozásában szerepet játszó agyterületek vizsgálatát a mellékveseirtott patkányok agresszivitása során, és eredményeink szerint ezen agyterületek fokozott aktiválódást mutattak (laterális hipotalamusz, centrális amigdala). A korrelációs elemzéseink és az ismert anatómiai kapcsolatok alapján feltételezhető, hogy a centrális amigdala a laterális hipotalamuszon keresztül hat a viselkedésre, s így alakul ki az abnormális támadásmintázat. A csökkent autonóm reaktivitás pedig a középagyi centrális szürkeállomány aktivációjának ventrális irányba való eltolódásával függhet össze, amely szintén adódhat a centrális amigdala fokozott aktivációjából. Ezzel együtt úgy tűnik, hogy a természetes teritoriális agresszió szabályozásában kulcsszerepet játszó hipotalamikus támadási terület és mediális amigdala nem játszik szerepet a mellékveseirtott patkányok abnormális agresszivitásában.

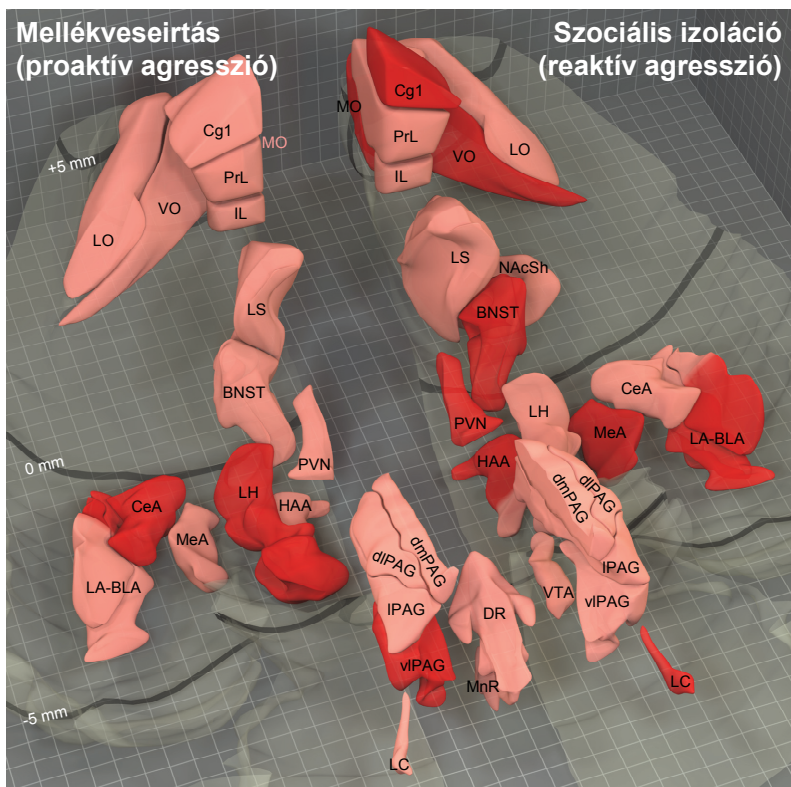
Az izolált patkányok abnormális agresszivitása során a ragadozói viselkedés szabályozásában szerepet játszó agyterületek (amelyek felelősek lehetnek a mellékveseirtott patkányok agresszivitásának abnormalitásáért;

centrális amigdala, laterális hipotalamusz, a közepagi centrális szürkeállomány ventrolaterális oszlopa) nem mutattak fokozott aktivációt. Így jelenleg nehéz megmagyarázni, hogy mi okozhatja az izolált patkányok abnormális viselkedését. Elképzelhető, hogy a szociális helyzetek értékelésének zavarán keresztül a prefrontális kéreg működésének változása okozza, ezt részletesebb analízisekkel lehetne alátámasztani. Ezzel szemben az izolált patkányok abnormális agresszivitása során a természetes agresszió szabályozásáért felelős agyterületek fokozott aktivációt mutattak (hipotalamikus támadási terület, mediális amigdala), amely aktiváció a mellékveseirtott patkányokra nem volt jellemző. Ez alapján azt feltételezhetjük, hogy az izolált patkányok agresszivitásának mennyiségi növekedéséért a természetes agresszió szabályozásában szerepet játszó agyterületek fokozott aktiválódása lehet felelős.

Az abnormális agresszió e két modelljében megfigyelt agyi aktivációs mintázatokat az 1. ábrán szemléltetjük.

Úgy tűnik tehát, hogy a mellékveseirtott és az izolált patkányok abnormális agresszivitása nemcsak megjelenésében és a hozzájuk társuló autonóm működésekben, hanem a központi idegrendszeri mechanizmusait tekintve is élesen elkülönül. Mindez egyúttal arra utal, hogy a „kóros agresszivitás” fogalma mechanizmusait tekintve is egy heterogén viselkedéskategóriát takar. Ebből adódhat például a jelenleg elérhető kezelési módok viszonylag gyenge eredményessége is. Ezeket az agressziótípusokat mind a humán, mind a laboratóriumi vizsgálatokban célszerű elkülöníteni.

A ragadozói agresszió idegrendszeri mechanizmusainak vizsgálata patkányban a legfőbb szabályozó régiók (laterális hipotalamusz) feltárását leszámítva nem történt meg korábban. Eredményeink szerint a ragadozói agresszió idegrendszeri mechanizmusai patkányban – c-Fos immunhisztokémia módszerrel vizsgálva – meglehetősen hasonlítanak a macskában, stimulációs kísérletekkel leírt szabályozó mechanizmusokhoz. Ez azt mutatja, hogy a ragadozói agresszió mechanizmusai meglehetősen konzervatívak fajok között. Ugyanakkor azt is megállapíthatjuk, hogy patkányban – akár csak macskában – a ragadozói agresszió szabályozó mechanizmusai jelentősen eltérnek a természetes, fajon belüli agresszió hasonló módszerekkel feltárt mechanizmusaitól. Míg a fajon belüli agresszió fő szabályozó területei a mediális amigdala és a hipotalamikus támadási terület, amelyek aktiválódása a centrális szürkeállomány kiegyensúlyozott aktiválódásával jár együtt, addig a ragadozói agresszió fő szabályozó területei a centrális amigdala és a laterális hipotalamusz, amelyek aktiválódása a centrális szürkeállomány aktiválódásának ventrális irányba való eltolódásával jár együtt. Ehhez nagyon hasonló különbségeket találtak macskákban a fokozott érzelmi reakciókkal járó agresszió (amely az önvédelmet és a saját terület védelmét szolgálja), valamint a ragadozói agresszió összehasonlításakor.



1. ábra. Az agyi aktivációs mintázatok összehasonlítása a mellékveseirtás következtében kialakuló (bal oldal), valamint a szociális izoláció következtében kialakuló abnormalis agresszió során (jobb oldal). Fenomenológiai és etiológiai hasonlóságok alapján az előbbit tekinthetjük a proaktív (hidegvérű, instrumentális), az utóbbit pedig a reaktív (érzelmi) abnormalis agresszió állapotmodelljének. Az ábrán a patkányagy ventrális felszíne áttetszően látható, ezen sötét vonalak jelzik a Bregmától való távolságot. A rózsaszínnel jelölt agyterületek aktiválódtak a természetes agresszió hatására (a kontroll állatokban), a pirossal jelölt agyterületek fokozott aktivációt mutattak a megfelelő abnormalis agresszió során. A mellékveseirtott patkányok esetében azon agyterületek aktivációját, amelyeket a jelen kísérletben nem vizsgáltunk, kutatócsoportunk korábbi, ugyanebben a paradigmában, ugyanezen módszerrel szerzett eredményei alapján ábrázoltuk. BNST, mediális „bed nucleus of the stria terminalis”; CeA, centrális amigdala; Cg1, anterior cinguláris kéreg; dIPAG, középagyi centrális szürkeállomány, dorzolaterális oszlop; dmPAG, középagyi centrális szürkeállomány, dorzomediális oszlop; DR, dorzális raphe; HAA, hipotalamikus támadási terület; IL, infralimbikus kéreg; LA-BLA, laterális-bazolaterális amigdala komplex; LO, laterális orbitofrontális kéreg; LC, locus coeruleus; LH, laterális hipotalamusz; IPAG, középagyi centrális szürkeállomány, laterális oszlop; LS, laterális szeptum; MeA, mediális amigdala; MnR, medián raphe; MO, mediális orbitofrontális kéreg; NAcSh, nucleus accumbens héj („shell”); PrL, prelimbikus kéreg; PVN, hipotalamikus paraventrikuláris mag, parvocelluláris régió; IPAG, középagyi centrális szürkeállomány, ventrolaterális oszlop; VO, ventrális orbitofrontális kéreg; VTA, ventrális tegmentális terület.

A ragadozói agresszió vizsgálatának másik fontos célja az volt, hogy alátámasszuk a patkányokon végzett kísérleteink és – a patkányadatok hiányában – macskában leírt korábbi eredmények alapján felállított hipotézisünket, mely szerint a csökkent érzelmi reaktivitással járó abnormális agresszió hátterében a ragadozói agressziót szabályozó agyterületek állhatnak. A jelen kísérlet eredményei megerősítik ezt a hipotézist, hiszen a ragadozói agresszió szabályozásában kulcsszerepet játszó agyterületek (laterális hipotalamusz, centrális amigdala, a középagy centrális szürkeállomány ventrális része) mind az egeret megölő, mind a mellékveseirtott patkányokban jelentősen aktiválódtak, s ez arra utalhat, hogy e két különböző viselkedés hasonló idegi működésekre vezethető vissza.

Következtetések

Az elválasztás utáni szociális izoláció patkányokban felnőttkori abnormális agresszivitáshoz vezet (veszélyes, illetve előre nem jelzett harapások), s ehhez az abnormális agresszióhoz fokozott viselkedésbeli, glükokortikoid- és autonóm reaktivitás társul. Ezen etiológiai és fenomenológiai hasonlóságai alapján az izolált patkányok agresszivitása jó és tudomásunk szerint az első modellje lehet a reaktív (érzelmi) abnormális humán agresszivitásnak. A patkányok abnormális agresszióformáinak a társuló stressz- és autonóm működések alapján történő szétválasztása hipotézisünk szerint etiológiai szempontból megfelel a humán agresszió kutatásában leírt, érzelmi háttér alapján történő szétválasztásnak. E hipotézisünk alapján a mellékveseirtott patkányok abnormális agresszivitását tekinthetjük a proaktív (hidegvérű, instrumentális) agresszió etiológiai analógián alapuló modelljének, a szociálisan izolált patkányok agresszivitása pedig a fentiek szerint a reaktív (érzelmi) agresszió modellje lehet.

Míg a felnőttkori reszocializáció helyreállított bizonyos izoláció által indukált szociális problémákat (együtt alvás), az izoláció következtében kialakult indokolatlan védekezést és az abnormális agresszivitást nem javította. Az izoláció hatására kialakult különböző tünetek tehát – akárcsak a megfelelő humán következmények – különféleképpen reagáltak ugyanarra a kezelésre. Ezek az eredmények egyúttal még hasonlatosabbá teszik ezt az állatmodellt az emberek korai szociális zavarokból (különösen az elhanyagoltságból) levezethető szociális problémáihoz (szociális fóbia, agresszív viselkedés).

A különféle agresszióformák agyi aktivációs mintázatainak összevetéséből az alábbi következtetéseket vonhatjuk le. Egyrészt a patkányok egérölő viselkedése, amely e fajban ragadozói agresszióknak tekinthető, idegrendszeri mechanizmusaiiban nagyon hasonlít a macskák ragadozói agressziójához. Másrészt a különböző fajon belüli

agresszióformák – természetes agresszió, csökkent, illetve fokozott stressz- és autonóm működésekkel együtt járó abnormális agresszióformák – idegrendszeri mechanizmusai jelentősen eltérnek, tehát ezek nemcsak megjelenésükben és a társuló stressz- és autonóm működésekben, hanem központi idegrendszeri mechanizmusaikban is eltérő viselkedésformák. Míg a fokozott stressz- és autonóm működésekkel együtt járó agresszivitás (izolált patkányok) a természetes agresszióért felelős agyterületek (mediális amigdala, hipotalamikus támadási terület) fokozott aktiválódásával jár együtt, addig a csökkent stressz- és autonóm működésekkel együtt járó abnormális agresszivitás (mellékveseirtott patkányok) hátterében – úgy tűnik – a ragadozói agresszivitásért felelős agyterületek állnak (centrális amigdala, laterális hipotalamusz, a középagy centrális szürkeállomány ventrális része).

Figyelembe véve a vizsgált állatmodellek és a humán agresszióformák közötti fenomenológiai és etiológiai hasonlóságokat, a fentiek alapján azt feltételezhetjük, hogy a kóros humán agresszivitás proaktív (hidegvérű, instrumentális) és reaktív (érzelmi) típusainak központi idegrendszeri mechanizmusai is élesen elkülönülnek. Míg a reaktív típus a normális agressziót szabályozó agyi körök túlzott működéséből adódhat, addig a proaktív típus a természetes agresszióra nem jellemző szabályozó mechanizmusok, azaz a ragadozói agresszió szabályozásáért felelős agyterületek működésével függhet össze.

Összefoglalás

A kóros agresszivitásnak jól megkülönböztethető típusai a proaktív (hidegvérű) és reaktív (érzelmi) agresszió, amely agresszióformák mechanizmusait megfelelő állatmodellek vizsgálatával jobban megérthetjük. Minőségi jellegei alapján abnormális agressziót laboratóriumi patkányokban először kutatócsoportunk írt le: a mellékvesék műtéti eltávolítása abnormális – az ellenfél sérülékeny testrészeire irányuló, kevésbé előre jelzett – harapásokhoz és eközben csökkent autonóm reaktivitáshoz vezetett. A szerzők ezt a paradigmát a proaktív (hidegvérű) agresszió modelljeként javasolták. Később szintén kutatócsoportunk figyelte meg, hogy laboratóriumi patkányok elválasztás utáni szociális izolációja szintén abnormális támadásmintázathoz vezet.

A jelen munkában alkalmazott hormonméréseink és in vivo biotelemetriás méréseink során az izolált patkányok agresszivitásához fokozott glükokortikoid- és autonóm reaktivitás társult. E paradigma tehát etiológiailag a reaktív (érzelmi) kóros agresszióhoz hasonló. A humán vizsgálatokhoz hasonlóan, az izolált patkányok abnormális agresszivitását a felnőttkori reszocializáció nem fordította vissza, bár bizonyos szociális deficittek hamar helyreálltak ugyanezen kezelés hatására.

A különféle abnormális agresszióformák idegrendszeri mechanizmusait a Fos immunhisztokémia módszerrel vizsgáltuk. Míg az izolált patkányok fokozott stressz- és autonóm működésekkel társuló agresszivitása során a természetes agresszióban szerepet játszó agyterületek (mediális amigdala, hipotalamikus támadási terület) fokozott működését figyeltük meg, addig a mellékveseirtott patkányok csökkent stressz- és autonóm reaktivitással társuló agresszivitása során a ragadozói agresszió stimulációs módszerekkel, macskában feltárt szabályozó agyterületei aktiválódtak (centrális amigdala, laterális hipotalamusz, középagyi centrális szürkeállomány ventrális része). Hogy ez utóbbi hasonlóságot pontosabban megérthessük, a ragadozói agresszió során aktiválódó agyterületeket is megvizsgáltuk patkányban a Fos immunhisztokémia módszerrel. Azt találtuk, hogy a viselkedés szabályozása a két fajban hasonló.

Eredményeink alapján úgy tűnik, hogy a mellékveseirtott, illetve a szociálisan izolált patkányok abnormális agresszivitása fenomenológiai és etiológiai hasonlóságok alapján jó modellje lehet a kóros humán agresszió proaktív, illetve reaktív típusainak (megfelelően), s valószínűsíthető, hogy ezek nemcsak megjelenésükben, hanem hormonális, autonóm és agyi mechanizmusait tekintve is különböző agresszióformák.

A szerző publikációinak jegyzéke

A disszertációhoz kapcsolódó közlemények

1. **Tulogdi Á**, Tóth M, Halász J, Mikics É, Füzesi T és Haller J (2010) Brain mechanisms involved in predatory aggression are activated in a laboratory model of violent intra-specific aggression. *Eur J Neurosci*, 32: 1744-1753. **IF: 3,658**
2. Tóth M, Mikics É, **Tulogdi Á**, Aliczki M és Haller J (2011) Post-weaning social isolation induces abnormal forms of aggression in conjunction with increased glucocorticoid and autonomic stress responses. *Horm Behav*, 60: 28-36. **IF: 3,865**
3. Tóth M, **Tulogdi Á**, Biró L, Sörös P, Mikics É és Haller J (2012) The neural background of hyper-emotional aggression induced by post-weaning social isolation. *Behav Brain Res*, 233: 120-129. **IF: 3,327**
4. **Tulogdi Á**, Tóth M, Barsvári B, Biró L, Mikics É és Haller J (2014) Effects of resocialization on post-weaning social isolation-induced abnormal aggression and social deficits in rats. *Dev Psychobiol*, 56: 49-57. **IF: 2,595**
5. **Tulogdi Á**, Biró L, Tóth M, Barsvári B, Stankovic M és Haller J. The neural background of spontaneous mouse-killing behavior in rats - a c-Fos study. **Kézirat.**

A szerző egyéb közleményei

6. Halász J, Zelena D, Tóth M, **Tulogdi Á**, Mikics É és Haller J (2009) Substance P neurotransmission and violent aggression: the role of tachykinin NK(1) receptors in the hypothalamic attack area. *Eur J Pharmacol*, 611: 35-43. **IF: 2,585**
7. Tóth M, Füzesi T, Halász J, **Tulogdi Á** és Haller J (2010) Neural inputs of the hypothalamic "aggression area" in the rat. *Behav Brain Res*, 215: 7-20. **IF: 3,393**
8. **Tulogdi Á**, Sörös P, Tóth M, Nagy R, Biró L, Aliczki M, Klausz B, Mikics É és Haller J (2012) Temporal changes in c-Fos activation patterns induced by conditioned fear. *Brain Res Bull*, 88: 359-370. **IF: 2,935**

9. Aliczki M, Balogh Z, **Tulogdi Á** és Haller J (2012) The temporal dynamics of the effects of monoacylglycerol lipase blockade on locomotion, anxiety, and body temperature. *Behav Pharmacol*, 23: 348-357. **IF: 2,301**
10. Klausz B, Haller J, **Tulogdi Á**, Zelena D. Genetic and Epigenetic Determinants of Aggression. In: Minárovits, J és Niller, HH (szerk.), *Patho-Epigenetics of Disease*. Springer, New York, USA, 2012: 227-280. **Könyvfejezet.**

Köszönetnyilvánítás

Mindenekelőtt hálával tartozom témavezetőmnek, Dr. Haller Józsefnek, aki időt és energiát soha nem kímélve, szakmai és emberi támogatásával mindvégig segítette doktori munkámat. Mindez nagyban hozzásegített tudományos gondolkodásmódom fejlesztéséhez.

Hálával tartozom közvetlen munkatársaimnak, Dr. Mikics Évának, Dr. Tóth Máténak, Barsvári Beátának és Biró Lászlónak, és minden szerzőtársamnak, akiktől nemcsak rengeteg elméleti és gyakorlati segítséget, baráti támogatást kaptam, de az ő munkájuk nélkül ezek az eredmények meg sem születhettek volna. Köszönöm Dr. Aliczki Manónak és a Magatartás Neurobiológiai Osztály többi munkatársának, hallgatójának, hogy a kutatócsoportban baráti légkörben, jó hangulatban, termékenyen dolgozhattunk együtt.

Köszönöm továbbá a Magyar Tudományos Akadémia Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet többi munkatársának, hogy szükség esetén mindig a segítségemre voltak.

Köszönöm a Semmelweis Egyetem Doktori Titkárság munkatársainak odaadó munkáját, amellyel a doktori képzést szervezik, és bármilyen adminisztratív kérdés esetén készségesen rendelkezésére álltak.

A nyelvhelyesség és a helyesírás ellenőrzését köszönöm Gulyás Teréziának.

Végül, de nem utolsósorban köszönöm feleségemnek, szüleimnek, testvéreimnek, rokonaimnak és barátaimnak, hogy szeretetük és biztatásuk végigkísért doktori munkám és e disszertáció elkészítése során.